

УДК: 10.18522/2308-9709-2020-32-4

<https://new.jbks.ru/archive/issue-32/article-4>

# Исследование ассоциации аллельных вариантов гена рецептора лептина с задержкой темпа полового развития мальчиков в околупубертатный период

[Александрова А. А.<sup>1</sup>](#), [Попова В. А.<sup>2</sup>](#), [Шкурат М. А.<sup>3</sup>](#), [Деревянчук Е. Г.<sup>4</sup>](#), [Машкина Е. В.<sup>5</sup>](#), [Липович Л. .<sup>6</sup>](#)

1. Ученое звание: нет

2. ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России «НИИАП»

3. лаборатория экспериментального мутагенеза Академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского Южного федерального университета

4. кафедра генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского Южного федерального университета

5. кафедра генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского Южного федерального университета

6. Center for Molecular Medicine & Genetics, Wayne State University

Исследовали содержание лептина в сыворотке крови и наличие полиморфизма A668G (Gln223Arg) гена рецептора лептина LEPR у мальчиков препубертатного возраста с задержкой темпов полового развития с учетом массы тела. Уровень лептина в сыворотке крови у мальчиков с избытком массы тела и ожирением практически в 5 раз выше по сравнению с мальчиками, имеющими нормальный вес, вне зависимости от стадии полового созревания. Показано, что аллель 668G гена рецептора лептина LEPR ассоциирована со снижением риска отставания темпов полового развития у подростков препубертатного возраста.

## Введение

Метаболические пути, контролирующие энергетический баланс организма и нормальное формирование и функционирование репродуктивной системы, взаимосвязаны и взаимозависимы. Самым типичным примером этого является корреляция между ожирением и угнетением репродуктивной функции человека. Избыточный вес и ожирение ассоциированы с бесплодием, метаболическими и гормональными нарушениями [1]. У мужчин с индексом массы тела более 25 изменяются количественные и качественные показатели спермы [2]. Снижается уровень тестостерона при одновременном повышении уровня эстрадиола и фолликулстимулирующего гормона [10].

Пищевое поведение контролируется гипоталамусом через ряд сигнальных молекул и рецепторных систем. Важную роль в сигнальной регуляции метаболизма гипоталамо-гипофизарной системы играет лептин, секретируемый сигнальный белок адипоцитов [11]. Лептин изменяет активность нейронов дугообразных и других ядер гипоталамуса и, таким образом, снижает аппетит. Благодаря такой физиологической функции лептин играет важную роль в развитии ожирения, что доказано на мутантных мышах (*ob/ob*) по гену лептина или его рецептора [7].

Рецептор лептина LEPR является членом семейства цитокиновых рецепторов I типа. Мутации в гене лептинового рецептора связаны с такими фенотипическими проявлениями, как ожирение [16], диабет 2-го типа [14], рак молочной железы [22]. Помимо этого изменение функционирования гипоталамо-гипофизарной системы при мутациях в гене лептина и/или его рецептора проявляется нарушением созревания репродуктивной системы [18].

Период пубертата характеризуется процессами, связанными с активацией и созреванием гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, что проявляется изменением концентрации многих гормонов. Нейроэндокринная регуляция фертильности осуществляется через гонадотропин-релизинг гормон (ГнРГ), который контролирует синтез лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулстимулирующего (ФСГ) гормонов, запускающих процессы функционирования гонад. Уровень ГнРГ может изменяться под влиянием различных, в том числе и внешних факторов, к которым можно отнести и особенности питания [9].

Существуют данные о влиянии *LEPR* на нейроэндокринную регуляцию репродуктивных функций у млекопитающих. У животных с низким уровнем лептина или его рецептора проявляются нарушения репродуктивной функции [24]. Так, у мышей, имеющих мутацию гена *LEPR*, проявлялись нарушения полового созревания, выразившиеся в блокаде

эстрадиол-зависимого овуляторного всплеска ЛГ у самок [19]. У самцов мышей с нарушением лептиновой сигнализации выявлены нарушения сперматогенеза и атрофия тестикул. Помимо делеции описано несколько аллельных вариантов гена *LEPR*.

Целью данной работы было исследовать частоту генотипов и аллелей по полиморфизму A668G (Gln223Arg) гена рецептора лептина *LEPR* у мальчиков препубертатного возраста с задержкой темпов полового развития с учетом массы тела.

### Материал и методы исследования

Материалом для исследования служили образцы ДНК, полученные из лейкоцитов периферической крови мальчиков 11–12 лет, проживающих в г. Ростове-на-Дону. Обследование и забор образцов проводили согласно нормам биоэтики с получением информированного согласия родителей. Определение степени полового развития было проведено детским эндокринологом НИИ акушерства и педиатрии на основании оценки полового развития с помощью шкалы Таннера. По результатам медицинского обследования с учетом стадии полового развития по Таннеру и индекса массы тела были сформированы следующие группы:

Мальчики 11–12 лет 1 стадия Таннер, нормальная масса тела ( $n = 48$ ).

Мальчики 11–12 лет 1 стадия Таннер, избыток массы тела и ожирение ( $n = 43$ ).

Мальчики 11–12 лет 2 стадия Таннер, нормальная масса тела ( $n = 24$ ).

Мальчики 11–12 лет 2 стадия Таннер, избыток массы тела и ожирение ( $n = 20$ ).

Критериями исключения из исследования служили наличие генетических заболеваний, синдромов и органических поражений центральной нервной системы в анамнезе.

Определение уровня лептина в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе Alisei (Италия) с использованием реагентов фирмы-производителя Diagnostic Biochem (DBC, Canada).

Выделение ДНК проводили термокоагуляционным методом с использованием реагента «ДНК-экспресс-кровь» (Литех, Россия).

Исследование полиморфизма A668G (Gln223Arg) гена рецептора лептина *LEPR* проводили с использованием набора реагентов для проведения амплификации «SNP-экспресс» (Литех, Россия). Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 3 % агарозном геле. Анализ электрофорограмм проводили на трансиллюминаторе GelDoc XR (Bio-Rad, США). Статистический анализ данных по уровню лептина проводили в среде MedCalc 11.4.2. с использованием критерия Краскала-Уолиса с апостериорными сравнениями по Коноверу, а также критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Данные приведены в формате: медиана (25 перцентиль – 75 перцентиль).

Соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга определяли с использованием Hardy-Weinberg equilibrium calculator [21]. Распределение частот генотипов во всех 4 подгруппах соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

Оценку различий в распределении аллельных вариантов генов в обследованных группах осуществляли по критерию  $\chi^2$  при помощи программы BIOSTAT [4]. О риске возможного отставания в половом развитии судили по отношению шансов (odds ratio – OR), которое вычисляли в соответствии с  $OR = (A/B) * (D/C)$ , где А и С – число имеющих «мутантный» генотип мальчиков с отставанием в половом развитии и нормальным темпом формирования половой системы соответственно, В и D – число не имеющих «мутантный» генотип мальчиков двух групп. OR указан с 95%-ым доверительным интервалом (CI) [17].

### Результаты исследований

Определение уровня лептина в сыворотке крови показало, что у мальчиков с избытком массы тела и ожирением концентрация лептина статистически значимо выше, по сравнению с мальчиками, имеющими нормальный вес, вне зависимости от стадии полового созревания (табл. 1).

Таблица 1 – Уровень лептина (нг/мл) в сыворотке крови мальчиков

11–12 лет в зависимости от массы тела и стадии полового созревания

Мальчики с избытком массы тела		Мальчики с нормальным весом	
Стадия Таннер 1	Стадия Таннер 2	Стадия Таннер 1	Стадия Таннер 2
18,7 (10,3 – 33,1)*	17,9 (10,5 – 31,5)*	3,6 (1,9 – 9,1)	3,0 (1,6 – 7,0)

Примечание: \* – статистически значимые отличия по сравнению с мальчиками с нормальным весом и соответствующей стадией полового развития при  $p < 0,01$

Анализ частот генотипов и аллелей по полиморфизму A668G гена рецептора лептина *LEPR* среди мальчиков 11–12 лет с избыточной массой тела и ожирением показал, что в подгруппе с задержкой темпов полового развития частоты аллелей и генотипов по исследуемому полиморфизму гена *LEPR* не отличаются от таковых для группы мальчиков с нормальным темпом полового созревания (табл. 2).

Таблица 2 – Частота генотипов и аллелей по полиморфизму A668G гена рецептора лептина *LEPR* среди мальчиков 11–12 лет

с избыточным весом и ожирением

Генотип	Стадия Таннер 1, абс. (%)	Стадия Таннер 2, абс. (%)	OR (95% CI)
AA668	17 (39,5)	3 (15,0)	3,71 (0,94 – 14,5)
A668G	15 (34,9)	10 (50,0)	0,54 (0,18 – 1,5)
668GG	11 (25,6)	7 (35,0)	0,64 (0,2 – 2,0)
Частота аллели 668G	0,43	0,6	0,5 (0,23 – 1,0)

Анализ частот генотипов и аллелей по полиморфизму A668G гена рецептора лептина *LEPR* среди мальчиков 11–12 лет с нормальным весом показал, что у мальчиков с задержкой темпов развития половой системы (стадия Таннер 1) число гомозигот по аллели 668G составило 16,7 %, что в 2,5 раза ниже, по сравнению с группой детей, уровень полового созревания которых соответствует стадии Таннер 2 (табл. 3). В то же время число гомозигот по аллели A668 при отставании темпов полового развития составило 29,2 %, тогда как в контроле – 8,3 %. Частота аллели 668G в группе мальчиков с отставанием темпов полового развития статистически значимо ниже, по сравнению с таковой в контрольной группе (стадия Таннер 2) (табл. 3).

Таблица 3 – Частота генотипов и аллелей по полиморфизму A668G гена рецептора лептина *LEPR* среди мальчиков 11 – 12 лет с нормальным весом

Генотип	Стадия Таннер 1, абс. (%)	Стадия Таннер 2, абс. (%)	OR (95% CI)	$\chi^2$ (p)
---------	------------------------------	------------------------------	-------------	--------------

AA668	14 (29,2)	2 (8,3)	4,53 (0,94 – 21,9)	7,18 (0,03)
A668G	26 (54,2)	12 (50,0)	1,18 (0,44 – 3,15)	
668GG	8 (16,7)	10 (41,7)	0,28 (0,09 – 0,85)	
Частота аллели 668G	0,438	0,667	0,39 (0,19 – 0,8)	6,73 (0,01)

Как видно из таблиц 2 и 3, частота аллели 668G среди мальчиков с темповым отставанием в половом развитии (стадия Таннер 1) не отличалась у обследуемых с различной массой тела. В таблице 4 представлены частоты генотипов и аллелей по исследуемому полиморфизму между группами мальчиков в зависимости от стадии полового созревания без учета массы тела. Как видно из таблицы 4, аллель 668G характеризуется снижением относительного риска отставания темпов полового развития, тогда как для гомозигот по аллели A668 относительный риск повышен в 4 раза.

Таблица 4 – Частота генотипов и аллелей по полиморфизму A668G гена рецептора лептина LEPR среди мальчиков 11 – 12 лет в зависимости от стадии полового развития без учета массы тела

Генотип	Стадия Таннер 1, абс. (%)	Стадия Таннер 2, абс. (%)	OR (95% CI)	$\chi^2$ (p)
AA668	31 (34,1)	5 (11,4)	4,0 (1,44 – 11,25)	9,39 (0,009)
A668G	41 (45,1)	22 (50,0)	0,82 (0,4 – 1,69)	
668GG	19 (20,9)	17 (38,6)	0,42 (0,19 – 0,92)	
Частота аллели 668G	0,434	0,636	0,44 (0,26 – 0,74)	9,7 (0,002)

Таким образом, установлено, что аллель 668G ассоциирована со снижением риска отставания темпов полового развития у мальчиков препубертатного возраста.

### Обсуждение результатов

Оптимальный уровень лептина, отражающий оптимальное количество жировой ткани (а, следовательно, и количество энергии, запасенной в организме) необходим для нормального созревания репродуктивной системы человека. Ранее было показано, что у здоровых мальчиков перед началом пубертата происходит повышение уровня лептина, который снижается после начала пубертата. Поэтому уровень лептина рассматривали в качестве одного из маркеров готовности организма к реализации репродуктивной функции [5].

Нормальное течение пубертата зависит от функционирования ГнРГ, запускающего синтез гонадотропинов. Действие лептина на ГнРГ-секретирующие нейроны опосредуется через различные факторы, модулирующие их активность [12]. В частности, лептин стимулирует экспрессию гена киспептина [25]. В то же время известно, что уровень киспептина может оказывать влияние на ГнРГ-продуцирующие нейроны, на которых локализован лиганд рецептора киспептина GPR54 [25]. При дефиците киспептина или его рецепторов проявляется гипоталамический гипогонадизм и стерильность [6].

Участие лептина в созревании репродуктивной системы возможно и на уровне гонад. Известно, что уровень лептина в крови обратно коррелирует с уровнем тестостерона, продуцируемого клетками Лейдига, которые экспрессируют на своей поверхности рецептор к лептину [23]. При нормальном весе ингибирующий эффект лептина на синтез тестостерона клетками Лейдига незначителен. Но при избыточной массе тела увеличение уровня циркулирующего лептина способно оказывать прямое тормозящее действие на клетки Лейдига [23].

Рецептор лептина характерен и для клеток сперматогенеза, что предполагает участие лептина в регуляции пролиферации и дифференцировки предшественников половых клеток. Важная роль лептина для наступления пубертата была показана на пациентах с гомозиготной мутацией в гене рецептора лептина, у которых не наступал пубертат. При этом клиническая картина врожденной инактивации рецептора лептина схожа с наблюдаемой у пациентов с дефицитом лептина [8]. Пациенты с врожденным дефицитом лептина или мутаций гена рецептора лептина характеризуются гипогонадотропным гипогонадизмом; имеют низкие концентрации ФСГ и ЛГ; для них характерно отсутствие активного роста в период пубертата, недоразвитие вторичных половых признаков [8]. Гетерозиготы по мутациям гена *LEPR* чаще имеют ожирение, при этом уровень лептина у них коррелирует с индексом массы тела.

Однако высокий уровень циркулирующего лептина не может служить маркером полиморфного варианта гена *LEPR*. В нашем исследовании установлено, что частота аллели 668G гена *LEPR* среди мальчиков с избытком массы тела и ожирением (без учета стадии полового созревания) не отличается от таковой для мальчиков с нормальным весом (0,48 и 0,51 соответственно,  $p = 0,63$ ). Результаты мета-анализов по исследованию роли полиморфизмов (Lys109Arg, Gln223Arg, Lys656Asn) гена рецептора лептина также указывают на отсутствие ассоциации данных аллельных вариантов с увеличением индекса массы тела и ожирением [13].

В исследуемых нами группах мальчиков повышенный уровень лептина в сыворотке крови ассоциирован с избыточной массой тела (табл. 1) вне зависимости от стадии полового развития. Таким образом, в настоящее время уровень лептина в крови не может быть использован в качестве маркера для оценки начала и характера течения пубертата.

Уровень развития половой системы у мальчиков с избыточной массой тела и ожирением разный, что указывает на многокомпонентный контроль формирования данного сложного признака. Полученные результаты указывают и на то, что нормальное половое созревание может происходить на фоне повышенного уровня лептина и/или наличия полиморфных вариантов гена рецептора лептина. С другой стороны подростки с нормальным весом также отличаются по уровню созревания половой системы.

Как было показано ранее Вербицкой с коллегами [3], для группы мальчиков с отставанием темпов развития половой системы (стадия Таннер 1) вне зависимости от массы тела характерен низкий уровень тестостерона в сыворотке крови. В нашем исследовании установлено, что в данной группе мальчиков частота аллели 668G гена *LEPR* статистически значимо ниже таковой для мальчиков с нормальным темпом полового созревания (табл. 4).

Таким образом, полученные нами данные указывают на то, что полиморфизм A668G гена рецептора лептина *LEPR* не связан с ожирением, но ассоциирован с темповым отставанием начала пубертата.

Полиморфизм A668G гена *LEPR* затрагивает CRH1-внеклеточный домен рецептора [15]. Аллель A668 гена *LEPR* ассоциирована с низкой аффинностью связывания лептина и с высоким уровнем циркулирующего лептина [20]. Низкая эффективность связывания лептина с данной формой рецептора способна приводить к нарушению сигнальных каскадов, запускаемых лептином в центральной нервной системе и гонадах. В результате не формируется или снижается скорость формирования равновесия (согласованности) энергетического и гормонального статуса организма, без которого не возможно пубертатное созревание.

Известно, что в результате альтернативного сплайсинга ген *LEPR* экспрессирует несколько изоформ рецептора, только одна из которых содержит длинный внутриклеточный домен, необходимый для реализации анорексигенного эффекта лептина. Данная изоформа рецептора характерна для клеток гипоталамуса. В периферических органах экспрессируются короткие изоформы рецептора лептина. Можно предположить, что изменение эффективности связывания лептина с внеклеточным доменом рецептора, обусловленное наличием аллельного варианта гена рецептора, по разному изменяет активность проведения внутриклеточного сигнала для разных изоформ рецептора в зависимости от его тканевой локализации. Можно предположить, что с этим связано отсутствие ассоциации аллельного варианта гена *LEPR* с избытком массы тела и ожирением при наличии ассоциации с темповым отставанием полового созревания.

Таким образом, у мальчиков с нормальным весом и «контрольным» уровнем лептина в крови эффективность сигналинга и, следовательно, скорость созревания половой системы могут зависеть от генотипа по гену рецептора лептина. Наличие аллели A668 гена *LEPR* ассоциировано с темповым отставанием полового развития в период пубертата.

**Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028.**

## Список литературы

1. Андреева Е. Н., Шереметьева Е. В., Фурсенко В. А. Ожирение-угроза репродуктивного потенциала России // *Ожирение и метаболизм*, 2019. Т. 16. № 3. С.20—28. doi: <https://doi.org/10.14341/omet10340>
2. Артамонов А. А., Боголюбов С. В., Елисеева Т. И., Поздняков О. Б., Астахова А. В. Ожирение как фактор нарушения сперматогенеза (экспериментальное исследование) // *Андрология и генитальная хирургия*, 2020. 21(2). С. 36—43.
3. Вербицкая О. Г., Попова В. А., Афонин А. А., Александрова А. А., Золотухин П. В., Шкурят Т. П. Клинико-диагностическое значение определения лептина и андрогенов у мальчиков и подростков с ожирением // *Медицинский вестник Юга России*, 2013. №2. С. 37—43.
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М: Изд-во «Практика», 1998. 459 с.
5. Blüher S., Mantzoros C. S. Leptin in reproduction // *Curr. Endocrinol. Diabetes Obes.*, 2007. 14. P. 1—7.
6. Dungan H. M., Gottsch M. L., Zeng H., Gragerov A., Bergmann J. E., Vassilatis D. K., Clifton D. K., Steiner R. A. The role of kisspeptin-GPR54 signaling in the tonic regulation and surge release of gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone // *J. Neurosci*, 2007. 27(44). P. 12088—12095.
7. Farooqi I. S., Matarese G., Lord G. M., et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency // *J. Clin. Invest.*, 2002. 110. P. 1093—1103.
8. Farooqi I. S., Wangensteen T., Collins S., et al. Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor // *N. Engl. J. Med.*, 2007. 356. P. 237—247.
9. Gan E. H., Quinton R. Physiological significance of the rhythmic secretion of hypothalamic and pituitary hormones // *Prog. Res.*, 2010. 181. P. 111—126.
10. Hammoud A. O., Wilde N., Gibson M., Parks A., Carrell D.T., Meikle A.W. Male obesity and alteration in sperm parameters // *Fertil.*, 2008. 90. P. 2222—2225.
11. Hukshorn C. J., Menheere P. P., Westerterp-Plantenga M. S., Saris W.H. The effect of pegylated human recombinant leptin (PEG-OB) on neuroendocrine adaptations to semi-starvation in overweight men // *Eur. J. Endocrinol.*, 2003. P. 649—655.
12. Israel D., Chua S. Leptin receptor modulation of adiposity and fertility // *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2010. 21(1). P. 10—16.
13. Paracchini V., Pedotti P., Taioli E. Genetics of leptin and obesity: a HuGE review // *Am. J. Epidemiol.*, 2005. 162. P. 101—114.
14. Park K. S., Shin H. D., Park B. L. et al. Polymorphisms in the leptin receptor (LEPR) - putative association with obesity and T2DM // *J. Hum. Genet.*, 2006. 51. P. 85—91.
15. Peelman F., Iserentant H., De Smet A. S., Vandekerckhove J., Zabeau L., Tavernier J. Mapping of binding site III in the leptin receptor and modeling of a hexameric leptin.leptin receptor complex // *J. Biol. Chem.*, 2006. 281. P. 15496—15504.
16. Perusse L., Rankinen T., Zuberi A. et al. The human obesity gene map: The 2004 update // *Obes. Res.*, 2005. 13. P. 381—490.
17. Petrie A., Bulman J. S., Osborn J. F. Further statistics in dentistry. Part 8: systematic reviews and meta-analyses // *British Dental Journal*, 2003. 194. P. 73—78.
18. Piper M. L., Unger E. K., Myers M. G. Jr., Xu A. W. Specific physiological roles for signal transducer and activator of transcription 3 in leptin receptor-expressing neurons // *Mol. Endocrinol.*, 2008. 22(3). P. 751—759.
19. Quenell J. H. et al. Leptin indirectly regulates gonadotropin-releasing hormone neuronal function // *Endocrinology*, 2009. 150(6). P. 2805—2812.
20. Quinton N. D., Lee A. J., Ross R. J., Eastell R., Blakemore A.I. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women // *Hum. Genet.*, 2001. 108. P. 233—236.
21. Rodriguez S., Gaunt T. R., Day I. N. M. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies // *American Journal of Epidemiology Advance Access*, 2009. DOI 10.1093/aje/kwn359.
22. Snoussi K., Strosberg A. D., Bouaouina N. et al. Leptin and leptin receptor polymorphisms are associated with increased risk and poor prognosis of breast carcinoma // *BMC Cancer*, 2006. 20. P. 6—38.
23. Teerds K. J., de Rooij D. G., Keijzer J. Functional relationship between obesity and male reproduction: from humans to animal models // *Hum. Reprod. Update*, 2011. 17(5). P. 667—683.
24. Todd B. J., Ladyman S. R., Grattan D. R. Suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion but not luteinizing hormone surge in leptin resistant obese Zucker rats // *J. Neuroendocrinol.*, 2003. 15. P. 61—68.

25. Weinbauer G. F., Niehoff M., Niehaus M., Srivastav S., Fuchs A., Van Esch E., Cline J. M. Physiology and Endocrinology of the Ovarian Cycle in Macaques // *Toxicol. Pathol.*, 2008. 36(7S). P. 7S—23S.

## Spisok literatury

1. Andreeva, E. N., Sheremet'eva, E. V., Fursenko, V. A. Ozhirenie-ugroza reproduktivnogo potenciala Rossii // *Ozhirenie i metabolizm*, 2019. Т. 16. №. 3. S.20-28. doi: <https://doi.org/10.14341/omet10340>
2. Artamonov, A. A., Bogoljubov, S. V., Eliseeva, T. I., Pozdnjakov, O. B., Astahova, A. V. Ozhirenie kak faktor narusheniya spermatogeneza (jeksperimental'noe issledovanie) // *Andrologija i genital'naja hirurgija*, 2020. 21(2). S. 36-43.
3. Verbickaja, O. G., Popova, V. A., Afonin, A. A., Aleksandrova, A. A., Zolotuhin, P. V., Shkurat, T. P. Kliniko-diagnosticheskoe znachenie opredelenija leptina i androgenovu mal'chikov i podrostkov s ozhirenijem // *Medicinskij vestnik Juga Rossii*, 2013. №2. S. 37-43.
4. Glanc, S. Mediko-biologicheskaja statistika. Per. s angl. M: Izd-vo «Praktika», 1998. 459 s.
5. Blüher, S., Mantzoros, C. S. Leptin in reproduction // *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.*, 2007. 14. P. 1-7.
6. Dungan, H. M., Gottsch, M. L., Zeng, H., Gragerov, A., Bergmann, J. E., Vassilatis, D. K., Clifton, D. K., Steiner, R. A. The role of kisspeptin-GPR54 signaling in the tonic regulation and surge release of gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone // *J. Neurosci*, 2007. 27(44). P. 12088-95.
7. Farooqi, I. S., Matarese, G., Lord, G. M., et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency // *J. Clin. Invest.*, 2002. 110. P. 1093-103.
8. Farooqi, I. S., Wangensteen, T., Collins, S., et al. Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor // *N. Engl. J. Med.*, 2007. 356. P. 237-47.
9. Gan, E. H., Quinton, R. Physiological significance of the rhythmic secretion of hypothalamic and pituitary hormones // *Prog. Brain. Res.*, 2010. 181. P. 111-26.
10. Hammoud, A. O., Wilde, N., Gibson, M., Parks, A., Carrell, D.T., Meikle, A.W. Male obesity and alteration in sperm parameters // *Fertil. Steril.*, 2008. 90. P. 2222-2225.
11. Hukshorn, C. J., Menheere, P. P., Westertep-Plantenga, M. S., Saris, W. H. The effect of pegylated human recombinant leptin (PEG-OB) on neuroendocrine adaptations to semi-starvation in overweight men // *Eur. J. Endocrinol.*, 2003. 148. P. 649-655.
12. Israel, D., Chua, S. Leptin receptor modulation of adiposity and fertility // *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2010. 21(1). P. 10-16.
13. Paracchini, V., Pedotti, P., Taioli, E. Genetics of leptin and obesity: a HuGE review // *Am. J. Epidemiol.*, 2005. 162. P. 101-14.
14. Park, K. S., Shin, H. D., Park, B. L. et al. Polymorphisms in the leptin receptor (LEPR) - putative association with obesity and T2DM // *J. Hum. Genet.*, 2006. 51. P. 85-91.
15. Peelman, F., Iserentant, H., De Smet, A. S., Vandekerckhove, J., Zabeau, L., Tavernier, J. Mapping of binding site III in the leptin receptor and modeling of a hexameric leptin.leptin receptor complex // *J. Biol. Chem.*, 2006. 281. P. 15496-504.
16. Perusse, L., Rankinen, T., Zuberi, A. et al. The human obesity gene map: The 2004 update // *Obes. Res.*, 2005. 13. P. 381-490.
17. Petrie, A., Bulman, J. S., Osborn, J. F. Further statistics in dentistry. Part 8: systematic reviews and meta-analyses // *British Dental Journal*, 2003. 194. P. 73-78.
18. Piper, M. L., Unger, E. K., Myers, M. G. Jr., Xu, A. W. Specific physiological roles for signal transducer and activator of transcription 3 in leptin receptor-expressing neurons // *Mol. Endocrinol.*, 2008. 22(3). P. 751-9.
19. Quenell, J. H. et al. Leptin indirectly regulates gonadotropin-releasing hormone neuronal function // *Endocrinology*, 2009. 150(6). P. 2805-2812.
20. Quinton, N. D., Lee, A. J., Ross, R. J., Eastell, R., Blakemore, A.I. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women // *Hum. Genet.*, 2001. 108. P. 233-236.
21. Rodriguez, S., Gaunt, T. R., Day, I. N. M. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies // *American Journal of Epidemiology Advance Access*, 2009. DOI 10.1093/aje/kwn359.
22. Snoussi, K., Strosberg, A. D., Bouaouina, N. et al. Leptin and leptin receptor polymorphisms are associated with increased risk and poor prognosis of breast carcinoma // *BMC Cancer*, 2006. 20. P. 6-38.
23. Teerds, K. J., de Rooij, D. G., Keijzer, J. Functional relationship between obesity and male reproduction: from humans to animal models // *Hum. Reprod. Update*, 2011. 17(5). P. 667-83.
24. Todd, B. J., Ladyman, S. R., Grattan, D. R. Suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion but not luteinizing hormone surge in leptin resistant obese Zucker rats // *J. Neuroendocrinol.*, 2003. 15. P. 61-68.
25. Weinbauer, G. F., Niehoff, M., Niehaus, M., Srivastav, S., Fuchs, A., Van Esch, E., Cline, J. M. Physiology and Endocrinology of the Ovarian Cycle in Macaques // *Toxicol. Pathol.*, 2008. 36(7S). P. 7S-23S.

